

**KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
DARI FUNGI ENDOFIT DAUN AFRIKA (*Vernonia
amygdalina*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
*Pseudomonas aeruginosa***



CLARA ROSA MELINDA

2443015059

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2019

**KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
DARI FUNGI ENDOFIT DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

CLARA ROSA MELINDA

2443015059

Telah disetujui pada tanggal 12 Maret 2019 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing,

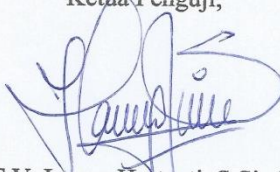


Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.

NIK. 241.07.0609

Mengetahui,

Ketua Penguji,



Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si.

NIK. 241.00.0437

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Fungi Endofit Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, Februari 2019



Clara Rosa Melinda

2443015059

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, Februari 2019



Clara Rosa Melinda

2443015059

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FUNGI ENDOFIT DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Clara Rosa Melinda
2443015059

Insiden meningkatnya resistensi antibiotik oleh bakteri terus meningkat, sedangkan perkembangan penemuan antibiotik tidak berimbang dengan perkembangan resistensi bakteri. Fungi endofit adalah salah satu cara untuk mendapatkan senyawa antibakteri menggantikan tanaman, karena adanya transfer genetik dari tanaman inang ke dalam mikroba endofit sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman inang dapat dihasilkan juga oleh mikroba endofit bahkan dalam jumlah yang lebih banyak. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi fungi endofit dari tanaman Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) dan menguji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Daun Afrika disterilisasi permukaannya dengan perendaman dalam etanol 70% selama 1 menit, natrium hipoklorit 5,3% selama 2 menit, dan alkohol 70% selama 30 detik, dilakukan pembilasan dengan akuades steril sebanyak dua kali kemudian dikeringkan dengan tisu steril dan ditanam dalam media *Malt Extract Agar* setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 2-14 hari. Fungi endofit yang diperoleh kemudian dimurnikan, fungi yang berbeda secara makroskopis dipindahkan ke dalam media cair *Potato Dextrose Yeast* dan diinkubasi selama 2-14 hari, dilakukan terus sampai fungi benar-benar murni. Diperoleh 3 macam fungi yang telah murni, fungi tersebut kemudian diujikan aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Isolat 1, 2, dan 3 masing-masing diduga masuk dalam genus *Fusarium*, *Pythium*, dan *Alternaria*. Karakterisasi fungi dilakukan dengan melakukan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan ketiga fungi endofit yang diperoleh tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: antibakteri, daun afrika, fungi endofit, *Vernonia amygdalina*.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM BITTER LEAF (*Vernonia amygdalina*) ON *Staphylococcus aureus* AND *Pseudomonas aeruginosa*

Clara Rosa Melinda
2443015059

The incidence of antibiotic resistance by bacteria continues to increase, while the development of antibiotic discoveries is not along with the development of bacterial resistance. Endophytic fungi are either way to get antibacterial compounds to replace plants, because of the genetic transfer of host plants into endophytic microbes so that secondary metabolites found in the host plants can also be produced by endophytic microbes even in greater amounts. This study aims to isolate and characterize endophytic fungi from African Leaves (*Vernonia amygdalina*), and endophytic fungi obtained will be tested for antibacterial activity against the bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. African leaves are surface sterilized by immersion in 70% ethanol for 1 minute, sodium hypochlorite (NaClO) 5.3% for 2 minutes, and 70% alcohol for 30 seconds, rinsing with sterile distilled water twice then dried with sterile tissue and planted in Malt Extract Agar media after that it was incubated at room temperature for 2-14 days. Endophytic fungi obtained were then purified, different fungi macroscopically were inoculated to Potato Dextrose Yeast liquid media and incubated for 2-14 days, carried out until the fungi were completely pure. Obtained 3 types of pure fungi, the fungi were then tested for their antibacterial activity against the bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Isolates 1, 2, and 3 are each suspected to belong to the genus *Fusarium*, *Pythium*, and *Alternaria*. Fungi characterization was carried out by making macroscopic, microscopic and biochemical tests. The antibacterial activity test results showed that the three endophytic fungi obtained did not have antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: african leaves, antibacterial, endophytic fungi, *Vernonia amygdalina*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Fungi Endofit Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa***. Penulisan skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus atas berkat, rahmat, kekuatan dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Papa Henricus Fianto, mama Niniek Sri Rahayu, serta saudara-saudara saya, Angela Violita, Aureli Romania Emerent, dan Fidelia Jovanka serta Meme yang telah menyayangi, mendampingi dan memberi semangat kepada penulis.
3. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing atas saran, nasehat, semangat, kesabaran dan waktu yang telah banyak diluangkan untuk mendampingi penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. Lucia Hendriati, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Penasehat Akademik yang telah mendampingi dan membimbing penulis selama proses perkuliahan.
5. Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Penguji terimakasih atas saran dan dukungan selama penulisan skripsi

6. Silvia Sutandhio, dr., M.Ked.Klin., Sp.MK. selaku Dosen Penguji atas saran dan dukungan yang diberikan.
7. Mas Anto (laboran Lab. Mikrobiologi Farmasi), Mas Ari (laboran Lab. Botani Farmasi) dan Mas Dwi (laboran Lab. Penelitian) yang telah membantu selama proses pengerjaan skripsi ini.
8. Teman-teman skripsi mikro: Birgitta Servia, Devi Julianita, dan Vanny Verawati atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Teman-teman es kacang ijo: Anggi Wijaya, Natanael Yoga, dan Veronica Ester yang telah menemani, menghibur, dan mendukung penulis selama proses penyusunan naskah skripsi.
10. Sahabat-sahabat 9 Princess Dugong: Alm. Kak Denanda Rosita, Mayang Kumala, Novia Purnama, Mar'atus Solikhah, Trys Monika, Birgitta Servia, Hanny Tirtadjaja, dan Monica Drestanta yang telah menemani penulis selama 4 tahun perkuliahan, menghibur, menyemangati, dan mendukung penulis selama proses penyusunan naskah.
11. Teman-teman penulis: Stephanie Beatrix, Mark Ruffus, Adventia Cahyani, Juniya, Vania Sutikno, Alfindo Agus, Vigo Sergio, Claudia Christanto, Tiara, dan Jeremy yang telah memberikan semangat, meminjamkan peralatan, dan memberikan asupan makanan kepada penulis.
12. Tim Basket Farmasi, Badan Eksekutif Mahasiswa, dan Ormawa Fakultas Farmasi dalam memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.
13. Semua pihak terkait yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Demikian yang penulis dapat sampaikan, atas segala kesalahan dan kekurangannya penulis mohon maaf yang sebesar-besarnya. Akhir kata, dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan. Atas perhatiannya penulis ucapkan terima kasih

Surabaya, Februari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis Penelitian.....	10
1.5 Manfaat Penelitian	10
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Tinjauan tentang Mikroba Endofit	11
2.1.1. Fungi Endofit	12
2.2 Tinjauan tentang Isolasi Fungi Endofit	13
2.3 Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.3.1. Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.3.2. Karakterisasi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.3.3. Habitat <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.3.4. Patogenitas <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.3.5. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> pada Sampel Klinis.....	16
2.3.6. Penanganan <i>Staphylococcus aureus</i>	18

	Halaman
2.4 Tinjauan tentang <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2.4.1. Klasifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2.4.2. Karakterisasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2.4.3. Habitat <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
2.4.4. Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
2.4.5. Patogenitas <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
2.4.6. Penanganan Infeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
2.5 Tinjauan tentang Senyawa Antibakteri	22
2.6 Tinjauan tentang Antibiotik Siprofloksasin.....	25
2.6.1. Definisi dan Mekanisme Kerja Antibiotik Siprofloksasin	25
2.6.2. Struktur Kimia	25
2.7 Tinjauan tentang Uji Aktifitas Antibakteri.....	26
2.7.1. Difusi Cakram.....	26
2.7.2. Pengenceran Dilusi	27
2.8 Tinjauan tentang Tanaman Daun Afrika	28
2.8.1. Klasifikasi Tanaman Daun Afrika	28
2.8.2. Deskripsi Tanaman Daun Afrika	29
2.8.3. Makroskopis Daun Afrika	30
2.8.4. Mikroskopis Daun Afrika	31
2.8.5. Nama Asing Tanaman Daun Afrika.....	32
2.8.6. Habitat Tanaman Daun Afrika	32
2.8.7. Kandungan Senyawa Daun Afrika.....	33
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	34
3.1 Jenis Penelitian.....	34
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	34
3.2.1. Bahan Penelitian	34

	Halaman
3.2.2. Alat Penelitian	35
3.3 Metode Penelitian.....	35
3.4 Variabel Penelitian	36
3.5 Tahapan Penelitian	37
3.5.1. Pengambilan Sampel Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	37
3.5.2. Determinasi, Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	37
3.5.3. Isolasi Fungi Endofit dari Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	37
3.5.4. Pemurnian Kultur Fungi Endofit Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	38
3.5.5. Penyiapan Bakteri Uji	38
3.5.6. Pembuatan Larutan Antibiotik Sebagai Blanko Positif.	39
3.5.7. Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	39
3.5.8. Karakterisasi Fungi Endofit	40
3.6 Analisis Hasil Pengamatan.....	42
3.7 Skema Kerja	43
BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Hasil Penelitian	44
4.1.1. Determinasi Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>).....	44
4.1.2. Makroskopis dan Mikroskopis Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	44
4.1.3. Isolasi Fungi Endofit dari Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	48
4.1.4. Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	49
4.1.5. Penyiapan Bakteri Uji	50
	viii

4.1.6. Pengujian Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Afrika terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
4.1.7. Karakterisasi Fungi Endofit	54
4.2 Pembahasan.....	59
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	72
5.1 Kesimpulan	72
5.2 Saran.....	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	83

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> dalam pengecatan Gram dengan perbesaran 1000x	15
Gambar 2.2 Kultur <i>Staphylococcus aureus</i> dalam agar darah	17
Gambar 2.3 Pengecatan Gram dari dahak pasien yang terinfeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Gambar 2.4 Mikrograf elektron menunjukkan <i>single</i> flagella dari bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Gambar 2.5 Struktrur kimia dari antibiotik siprofloksasin.....	25
Gambar 2.6 Semak daun afrika.....	30
Gambar 2.7 Daun afrika.....	31
Gambar 2.8 Epidermis adaksial (permukaan atas) daun afrika.....	31
Gambar 2.9 Epidermis abaksial (bagian bawah) daun afrika.....	32
Gambar 2.10 Struktur kimia seskuioterpen lakton yang diisolasi dari daun afrika	33
Gambar 4.1 Pengamatan daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	45
Gambar 4.2 Hasil pengamatan mikroskopis penampang melintang daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) pada perbesaran 42,3x10 dengan media air	46
Gambar 4.3 Gambar penampang melintang tulang daun dari daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) dengan pembesaran 42,3x10 dengan media floroglusin-HCl .	47
Gambar 4.4 Stomata tipe <i>anomositik</i> pada penampang membujur bagian bawah (<i>abaksial</i>) daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) dengan pembesaran 42,3x10 dalam media air.....	47
Gambar 4.5 Sisik kelenjar tipe <i>compositae</i> pada penampang membujur daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) dengan pembesaran 42,3x10 dalam media air.....	48
Gambar 4.6 Kristal Ca Oksalat bentuk roset pada penampang membujur daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	48

Gambar 4.7	Inokulasi sampel daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) pada media <i>Malt Extract Agar</i>	49
Gambar 4.8	Pengamatan pertumbuhan fungi endofit daun afrika dari tanaman 1 setelah inkubasi selama 5 hari	49
Gambar 4.9	Pengamatan pertumbuhan fungi endofit daun afrika dari tanaman 2 setelah inkubasi selama 5 hari	49
Gambar 4.10	Koloni murni fungi endofit daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) usia 5 hari pada media <i>Malt Extract Agar</i>	50
Gambar 4.11	Pengamatan makroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada media selektif <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA) setelah diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C.....	51
Gambar 4.12	Pengamatan makroskopis bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada media selektif <i>Cetrimide Agar</i> setelah diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C	51
Gambar 4.13	Pengamatan mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 dengan pengecatan Gram pada perbesaran 10x100	51
Gambar 4.14	Pengamatan mikroskopis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27893 dengan pengecatan Gram pada perbesaran 10x100	52
Gambar 4.15	Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri fungi endofit daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dalam media <i>Plate Count Agar</i>	53
Gambar 4.16	Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri fungi endofit daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dalam media <i>Plate Count Agar</i>	53
Gambar 4.17	Koloni murni fungi endofit daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) pada usia 5 hari pada media <i>Malt Extract Agar</i>	55

	Halaman
Gambar 4.18 Hasil uji hidrolisa amilum pada media <i>Starch Agar</i> yang telah dituangi larutan iodium	57
Gambar 4.19 Hasil uji hidrolisa gelatin pada media <i>Gelatin Agar</i> yang telah dituangi Larutan HgCl ₂ 12,6% dalam HCl	58
Gambar 4.20 Hasil uji hidrolisa kasein pada media <i>Milk Agar</i> <i>Base</i>	58
Gambar 4.21 Hasil uji hidrolisa lemak pada media <i>Neutral Red</i> <i>Agar</i>	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kategori penghambatan antimikroba berdasarkan diameter daerah hambatan pertumbuhan.....	27
Tabel 4.1 Hasil pengamatan makroskopis daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	46
Tabel 4.2 Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri fungi endofit daun afrika terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
Tabel 4.3 Hasil pengamatan makroskopis isolat fungi endofit daun afrika pada media <i>Malt Extract Agar</i>	55
Tabel 4.4 Hasil pengamatan mikroskopis fungi endofit daun afrika pada media <i>Malt Extract Agar</i>	56
Tabel 4.5 Hasil uji biokimia fungi endofit daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	59

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A SURAT DETERMINASI DAUN AFRIKA (<i>Vernonia amydalina</i>)	83
Lampiran B KONTROL STERILASI PERMUKAAN DAUN AFRIKA (<i>Vernonia amydalina</i>).....	84